

**Contrast agent for ultrasounds and its preparation.**

**Patent number:** EP0131540  
**Publication date:** 1985-01-16  
**Inventor:** RASOR JULIA S; TICKNER ERNEST GLENN  
**Applicant:** SCHERING AG (DE)  
**Classification:**  
- **International:** A61K49/00  
- **European:** A61K49/22P4, A61K49/22P12  
**Application number:** EP19840730075 19840705  
**Priority number(s):** DE19833324754 19830706

**Also published as:**

 JP60075437 (A)  
 EP0131540 (A3)  
 DE3324754 (A1)

**Cited documents:**

 EP0052575  
 US4265251  
 WO8002365  
 EP0077752

**Abstract of EP0131540**

The contrast agent contains microparticles of maltose, dextrose, lactose or galactose and gas bubbles in a liquid vehicle, and is characterised in that the liquid vehicle is water, physiological electrolyte solution such as 0.9% strength sodium chloride solution, Ringer solution or Tyrode solution or an aqueous solution of maltose, dextrose, lactose or galactose. The contrast agent is suitable for generating echoes from liquid media, especially on ultrasonography of tissues with blood flow.

---

Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide



Europäisches Patentamt  
European Patent Office  
Office européen des brevets

⑪ Veröffentlichungsnummer:

0 131 540  
A2

⑫

## EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

⑬ Anmeldenummer: 84730075.3

⑭ Int. Cl. 4: A 61 K 49/00

⑮ Anmeldetag: 05.07.84

⑯ Priorität: 06.07.83 DE 3324754

⑰ Veröffentlichungstag der Anmeldung:  
16.01.85 Patentblatt 85/3

⑲ Benannte Vertragsstaaten:  
AT BE CH DE FR GB IT LI LU NL SE

⑳ Anmelder: SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT Berlin  
und Bergkamen  
Müllerstrasse 170/178 Postfach 65 03 11  
D-1000 Berlin 65(DE)

㉑ Erfinder: Raso, Julia S.  
10397A Meadow Place  
Cupertino California 95014(US)

㉒ Erfinder: Tickner, Ernest Glenn  
10050 Burchell Road  
Gilroy California 95020(US)

㉓ Ultraschallkontrastmittel sowie dessen Herstellung.

㉔ Ultraschallkontrastmittel, enthaltend Mikropartikel von  
Maltose, Dextrose, Laktose oder Galaktose und Gasbläschen  
in einem flüssigen Träger, dadurch gekennzeichnet, daß der  
flüssige Träger Wasser, physiologische Elektrolytlösung wie  
0,9 %ige Natriumchlorid-Lösung, Ringer-Lösung oder  
Tyrode-Lösung oder eine wäßrige Lösung von Maltose Dex-  
trose, Laktose oder Galaktose darstellt. Das Ultraschallkon-  
trastmittel ist hervorragend zur Echogebung von flüssigen  
Medien - besonders bei Ultraschallaufnahmen von blutdurch-  
flossenen Geweben - geeignet.

EP 0 131 540 A2

Die Erfindung betrifft die in den Ansprüchen gekennzeichneten Gegenstände.

Die Untersuchung von Organen mit Ultraschall (Sono-graphie) ist eine seit einigen Jahren gut eingeführte und praktizierte diagnostische Methode. Ultraschallwellen im Megahertz-Bereich (oberhalb 2 Mega-Hertz mit Wellenlängen zwischen 1 und 0,2 mm) werden an Grenzflächen von unterschiedlichen Gewebearten reflektiert. Die dadurch entstehenden Echos werden verstärkt und sichtbar gemacht. Von besonderer Bedeutung ist dabei die Untersuchung des Herzens mit dieser Methode, die Echokardiographie genannt wird (Haft, J.I. et al.: Clinical echocardiography, Futura, Mount Kisco, New York 1978; Köhler, E. Klinische Echokardiographie, Enke, Stuttgart 1979; Stefan, G. et al.: Echokardiographie, Thieme, Stuttgart-New York 1981; G. Biamino, L. Lange: Echokardiographie, Hoechst AG, 1983).

Da sämtliche Flüssigkeiten - auch das Blut - keine Echos liefern, wurde nach Möglichkeiten gesucht, das Blut und seine Strömung für eine Ultraschall-Untersuchung sichtbar zu machen, was durch die Zugabe von feinsten Gasbläschen auch möglich ist.

Aus der Literatur sind mehrere Methoden zur Herstellung der Gasbläschen bekannt. Sie lassen sich beispielsweise vor der Injektion in den Blutstrom durch heftiges Schütteln oder Rühren von Lösungen wie Salzlösungen, Farbstofflösungen oder von vorher entnommenem Blut erzeugen.

Obwohl man dadurch eine Ultraschall-Kontrastgebung erreicht, sind diese Methoden mit schwerwiegenden Nachteilen verbunden, die sich in schlechter Reproduzierbarkeit, stark schwankender Größe der Gasbläschen und - bedingt durch einen Anteil an sichtbaren großen Bläschen - einem gewissen Embolie-Risiko äußern. Diese Nachteile wurden durch andere Herstellungsverfahren teilweise behoben, wie beispielsweise durch das US-Patent 3,640,271, in dem Bläschen mit reproduzierbarer Größe durch Filtration oder durch die Anwendung einer unter Gleichstrom stehenden Elektrodenvorrichtung erzeugt werden. Dem Vorteil in der Möglichkeit, Gasbläschen mit reproduzierbarer Größe herstellen zu können, steht der erhebliche technische Aufwand als Nachteil gegenüber.

In dem US-Patent 4,276,885 wird die Herstellung von Gasbläschen mit definierter Größe beschrieben, die mit einer vor dem Zusammenfließen schützenden Gelatine-Hülle umgeben sind. Die Aufbewahrung der fertigen Bläschen kann nur im "eingefrorenen" Zustand erfolgen, beispielsweise durch Aufbewahren bei Kühlischranktemperatur, wobei sie zur Verwendung wieder auf Körpertemperatur gebracht werden müssen.

In dem US-Patent 4,265,251 wird die Herstellung und Verwendung von Gasbläschen mit einer festen Hülle aus Sacchariden beschrieben, die mit einem unter Druck

stehenden Gas gefüllt sein können. Stehen sie unter Normaldruck, so können sie als Ultraschallkontrastmittel eingesetzt werden; bei Verwendung mit erhöhtem Innendruck dienen sie der Blutdruckmessung. Obwohl hierbei die Aufbewahrung der festen Gasbläschen kein Problem darstellt, ist der technische Aufwand bei der Herstellung ein erheblicher Kostenfaktor.

Die Risiken der nach dem Stand der Technik zur Verfügung stehenden Kontrastmittel werden durch zwei Faktoren hervorgerufen: Größe und Anzahl sowohl der Feststoffpartikel als auch der Gasbläschen.

Der bisher geschilderte Stand der Technik gestattet die Herstellung von Ultraschallkontrastmitteln, die stets nur einige der geforderten Eigenschaften besitzen:

- 1.) Ausschalten des Embolierisikos
  - Gasbläschen (Größe und Anzahl)
  - Feststoffpartikel (Größe und Anzahl)
- 2.) Reproduzierbarkeit
- 3.) genügend lange Stabilität
- 4.) Lungengängigkeit, z.B. um Ultraschall-Kontrastierung des linken Herzteiles zu erhalten
- 5.) Kapillargängigkeit
- 6.) Sterilität und Pyrogenfreiheit der Zubereitung
- 7.) leichte Herstellbarkeit mit vertretbarem Kostenaufwand
- 8.) und problemlose Bevorratung.

In der europäischen Patentanmeldung mit der Veröffentlichungs-Nummer 52575 wird zwar die Herstellung von Gasbläschen beschrieben, die diese erforderlichen Eigen-

schaften besitzen sollen. Zu ihrer Herstellung werden Mikropartikel einer festen kristallinen Substanz, wie beispielsweise Galaktose, in einer Trägerflüssigkeit suspendiert, wobei das Gas, das an der Partikelloberfläche adsorbiert, in Hohlräumen zwischen den Partikeln oder in interkristallinen Hohlräumen eingeschlossen ist, die Gasbläschen bildet. Die so entstandene Suspension von Gasbläschen und Mikropartikel kann innerhalb von 10 Minuten injiziert werden. Der flüssige Träger transportiert und dispergiert die Mikropartikel und Gasbläschen und muß physiologisch verträglich sein.

In der europäischen Patentanmeldung Nr.52575 werden als Trägerlösungen wässrige Lösungen als besonders geeignet beschrieben, da deren Verträglichkeit unproblematisch ist. Es werden jedoch Zusätze benötigt, die die Viskosität der Lösung erhöhen. Als dafür besonders geeignet werden Glycerin, Propylenglykol, Polyethylenglykol 300 und 400, Polyvinylpyrrolidon und andere mit Wasser mischbare oder in Wasser dispergierbare Polymere genannt, soweit sie genügend verträglich sind. Als besonders bevorzugt wird im Beispiel 4 dieser Anmeldung ein flüssiger Träger beschrieben, der aus einer wässrigen 5%igen Dextrose-Lösung besteht, die noch 10 % Propylenglykol enthält.

Die Verwendung von Propylenglykol bei den mit diesen Ultraschall-Kontrastmitteln durchgeführten Untersuchungen ist allerdings nicht unproblematisch, wenn man berücksichtigt, daß diagnostische Untersuchungen des Herzens in erster Linie bei Risikopatienten durchgeführt werden, bei denen jeglicher problembehaftete Stoff nach Möglichkeit vermieden werden soll. Nach den Untersuchungen von P.P. Singh u.a., Arzneimittel-Forschung/Drug Research 32 (II.) Nr. 11/1982, S. 1443 ff hat sich gezeigt, daß Propylenglykol in höheren Konzentrationsbereichen unterschiedliche neuropsychopharmakologische Wirkungen bei Mäusen und Ratten hervorruft. Andere Autoren berichten über Blutdruckbeeinflussung (Budden, R. u.a. Arzneim.-Forschung 28/9: 1586 (1978).

Im Hinblick darauf, daß

- 1.) Ultraschall-Untersuchungen mit Kontrastmitteln mehrfach in kurzen Abständen erforderlich sein können und daß
- 2.) die verwendeten Ultraschall-Kontrastmittel als Bolus-Injektion durchgeführt werden, um den Verdünnungseffekt durch das strömende Blut so weit wie möglich entgegenzuwirken,

kann nicht ausgeschlossen werden, daß die das Gehirn  
erreichenen Propylenglykol-Konzentrationen - beson-  
ders bei Risikopatienten - nicht mehr unbedenklich sind.

Es war deshalb die Aufgabe dieser Erfindung, ein  
Ultraschallkontrastmittel bereitzustellen, das bei  
mindestens gleicher Wirksamkeit in der Anfärbung  
des Blutes in den untersuchten Organen auch ohne  
Propylenglykol eingesetzt werden kann.

Dabei wurde überraschenderweise festgestellt, daß  
durch die Verwendung eines flüssigen Trägers, der  
Wasser, eine physiologische Elektrolytlösung wie  
0,9 %ige wäßrige Natriumchloridlösung, Ringer-  
Lösung oder Tyrode-Lösung oder eine wäßrige Lösung  
von Maltose, Dextrose, Laktose oder Galaktose ist,  
ohne Zusatz von viskositäts erhöhenden Stoffen, wie  
beispielsweise Propylenglykol, eine gleichgute bis  
bessere Qualität der Anfärbung bei Ultraschallauf-  
nahmen von blutdurchströmten Organen (Herz, Adern)  
erreicht wird.

Zur Herstellung des erfindungsgemäßen Mittels geht  
man so vor, daß man die nach dem in der europäischen  
Patentanmeldung Nr. 52 575 beschriebenen Verfahren  
hergestellten Mikropartikel aus Maltose, Dextrose,  
Laktose oder Galaktose, wobei Galaktose bevorzugt  
ist, in einer wäßrigen Lösung von Maltose, Dextrose,  
Laktose oder vorzugsweise Galaktose unter sterilen  
Bedingungen suspendiert.

Wird die wäßrige Lösung von Maltose, Dextrose,  
Laktose oder Galaktose als flüssiger Träger verwendet,  
beträgt die Konzentration bis zu 30 % (Gewichtsprozent),  
wobei die Konzentration von der Löslichkeit des verwen-

deten Zuckers in Wasser abhängt. Beispielsweise verwendet man im Falle von Laktose eine bis zu 25 %ige (Gewichtsprozent) wässrige Lösung und im Falle von Galaktose eine bis zu 30 %ige Lösung, wobei eine 20 %ige wässrige Lösung bevorzugt ist.

Ein weiteres Verfahren zur Herstellung besteht darin, die Mikropartikel in Wasser, in physiologischer Elektrolytlösung wie 0,9 %iger wässriger Natriumchloridlösung, Ringer-Lösung oder Tyrode-Lösung zu suspendieren, wobei sich ein Teil der Mikropartikel, besonders rasch die Mikropartikel mit den geringsten Abmessungen spontan löst.

Dieses Verfahren bietet gegenüber dem Suspendieren der Mikropartikel in einer wässrigen Lösung von Maltose, Dextrose, Laktose oder Galaktose den Vorteil, daß man zur Herstellung des erfindungsgemäßen Kontrastmittels neben den Mikropartikeln lediglich Wasser benötigt, das länger steril aufzubewahren ist als eine wässrige Lösung von Maltose, Laktose, Dextrose oder Galaktose.

Die Anwendung der erfindungsgemäßen Kontrastmittel geschieht nach der im Beispiel 7 der genannten europäischen Patentanmeldung Nr. 52 575 geschilderten Methode. Um die Handhabung unter sterilen Bedingungen zu erleichtern, ist es zweckmäßig, die Mikropartikel und den flüssigen Träger in getrennten sterilen Gefäßen (Vials) bereitzuhalten und im Bedarfsfall den flüssigen Träger mittels Injektionsspritze dem entsprechenden Gefäß zu entnehmen und in das Gefäß mit den Mikropartikel zu überführen, die Mischung ca. 5-10 Sekunden zu schütteln, danach die benötigte Menge der Suspension zu entnehmen und in eine periphere Vene zu injizieren, wobei 0,01 ml bis 1 ml pro kg Körpergewicht appliziert werden. An die Kontrast-

mittelinjektion schließt sich sofort die Injektion von 5-10 ml Kochsalzlösung an, damit der Kontrastmittel-Bolus so weitgehend wie möglich bis zum Erreichen des Herzens erhalten bleibt. Die Ultraschall-Messung und -Untersuchung erfolgt wie in der eurpäischen Patentanmeldung beschrieben.

Bei den in Prozent angegebenen Konzentrationen handelt es sich stets um Gewichts-/Volumenprozente (W/V).

Beispiel 1A) Herstellung der Trägerflüssigkeit

80 g Galactose werden in Wasser für Injektionszwecke gelöst, bis zu einem Volumen von 400 ml aufgefüllt, durch ein 0,2 µm-Filter gedrückt, jeweils 5 ml dieses Filtrats in 5 ml-Vials abgefüllt und 20 Minuten bei 120°C sterilisiert.

B) Herstellung der gebrauchsfertigen Kontrastmittel-Lösung:

Man gibt den Inhalt eines Vials mit Trägerflüssigkeit (5 ml) zu 2 g Galaktose-Mikropartikel (hergestellt nach europäischer Patentanmeldung 52 575, Beispiel 1), die sich in einem 10 ml-Vial befinden und schüttelt 5 bis 10 Sekunden.

Beispiel 2A) Herstellung der Trägerflüssigkeit

Wasser für Injektionszwecke wird zu jeweils 5 ml in 5 ml-Vials abgefüllt und 20 Minuten bei 120°C sterilisiert.

B) Herstellung der gebrauchsfertigen Kontrastmittel-Lösung:

Man gibt den Inhalt eines Vials mit Trägerflüssigkeit (Wasser, 5 ml) zu 2 g Galaktose-Mikropartikel, die sich in einem 10 ml Vial befinden und schüttelt 5 bis 10 Sekunden.

Beispiel 3

A) Herstellung der Trägerflüssigkeit

9 g Natriumchlorid werden in Wasser für Injektionszwecke gelöst, die Lösung bis zu einem Volumen von 1000 ml aufgefüllt, durch ein 0,2 µm-Filter gedrückt, jeweils 5 ml dieses Filtrates in 5 ml-Vials abgefüllt und 20 Minuten bei 120 °C sterilisiert.

B) Herstellung der gebrauchsfertigen Kontrastmittellösung

Man gibt den Inhalt eines Vials mit Trägerflüssigkeit (5 ml 0,9 %ige Natriumchloridlösung) zu 2 g Galaktose-Mikropartikel, die sich in einem 10 ml-Vial befinden und schüttelt 5 bis 10 Sekunden.

## Patentansprüche:

- 1.) Ultraschallkontrastmittel, enthaltend Mikropartikel von Maltose, Dextrose, Laktose oder Galaktose und, Gasbläschen in einem flüssigen Träger, dadurch gekennzeichnet, daß der flüssige Träger Wasser, physiologische Elektrolytlösung wie 0,9 %ige Natriumchloridlösung, Ringer-Lösung oder Tyrode-Lösung oder eine wässrige Lösung von Maltose, Dextrose, Laktose oder Galaktose darstellt.
- 2.) Ultraschallkontrastmittel gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß es Mikropartikel aus Laktose in bis zu 25 %iger (Gewichtsprozent) wässriger Laktose-Lösung enthält.
- 3.) Ultraschallkontrastmittel gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß es Mikropartikel aus Galaktose in bis zu 20 %iger wässriger Galaktose-Lösung enthält.
- 4.) Ultraschallkontrastmittel gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß es Mikropartikel aus Galaktose in Wasser enthält.
- 5.) Ein Kit für die Herstellung eines Ultraschall-Kontrastmittel gemäß Anspruch 1 bis 4, bestehend aus
  - a) einem geeigneten Behälter mit einem Volumen von 5 - 10 ml, versehen mit einem Verschluß, der die Entnahme des Inhalts unter sterilen Bedingungen ermöglicht, gefüllt mit 4 bis 7 ml, vorzugsweise 6 ml, des flüssigen Trägers, der Wasser, physiologische Elektrolytlösung wie 0,9 %ige Natriumchlorid-Lösung, Ringer-Lösung oder Tyrode-Lösung, oder eine wässrige Lösung von Maltose, Dextrose, Laktose oder Galaktose darstellt und

b) einem zweiten geeigneten Behälter mit einem Volumen von 5 - 10 ml, versehen mit einem Verschluß, der die Zugabe einer Lösung und die Entnahme des Inhalts unter sterilen Bedingungen ermöglicht, gefüllt mit 1 bis 2 g Mikropartikel aus Maltose, Dextrose, Laktose oder Galaktose mit einer durchschnittlichen Größe von 1 bis 50  $\mu$ m.

6.) Verfahren zur Herstellung eines Ultraschallkontrastmittels gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß man in an sich bekannter Weise Mikropartikel von Maltose, Dextrose, Laktose oder Galaktose entweder in Wasser, in physiologischer Elektrolytlösung wie 0,9 %iger wässriger Natriumchloridlösung, Ringer-Lösung oder Tyrode-Lösung oder in einer wässrigen Lösung von Maltose, Dextrose, Laktose oder Galaktose suspendiert.